



(19) BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

(12) Offenlegungsschrift
(10) DE 40 13 588 A 1

(51) Int. Cl. 5:
G 01 N 33/53
// G01N 33/80

(21) Aktenzeichen: P 40 13 588.8
(22) Anmeldetag: 27. 4. 90
(43) Offenlegungstag: 14. 11. 91

DE 40 13 588 A 1

(71) Anmelder:
Suzuki Jidosha Kogyo K.K., Kami, Shizuoka, JP
(74) Vertreter:
Zumstein, F., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Klingseisen, F.,
Dipl.-Ing., Pat.-Anwälte, 8000 München

(72) Erfinder:
Yokomori, Yasuhiko; Harada, Yukinori, Hamamatsu,
Shizuoka, JP

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

(54) Apparat zum Nachweis der immunologischen Agglutination
(57) Apparat zum Nachweis der immunologischen Agglutination, wobei die lichtaussendenden Mittel, die Linsen und die lichtempfangenden Mittel für die Bewegung als Einheit im Hinblick auf die Reaktionsgefäße montiert sind. Das lichtempfangende Mittel umfaßt eine Mehrzahl von Bildaufnahmegerätsensoren, deren benachbarte Enden sich untereinander in Richtung der Bewegung überschneiden.

DE 40 13 588 A 1

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung ist verwandt mit der Patentanmeldung P 40 13 586-1 der Anmelderin vom gleichen Tag mit dem Titel "Vorrichtung zur Feststellung der immunologischen Agglutination", Case S-95, mit den Erfindern Masato Ohta, Yukinori Harada, Naoki Ozawa und Yasuhiko Yokomori (entsprechend den japanischen Patentanmeldungen 63-1 40 417, 1-30 725 und 1-34 836 vom 27. Oktober 1988, 9. Februar 1989 und 14. Februar 1989).

Hintergrund und Gebiet der Erfindung

Die vorliegende Erfindung betrifft einen Apparat zum Nachweis der immunologischen Agglutination (Zusammenkleben, Zusammenballen) und insbesondere einen Apparat zur Feststellung der immunologischen Agglutination, der geeignet ist zur Bestimmung der Bluttypen aus Agglutinationsmustern von Erythrozyten und zur Feststellung der Antigene und Antikörper verwendet zu werden.

Beschreibung des Standes der Technik

Bisher wurde auf medizinischem Gebiet eine Methode zur Bestimmung von Agglutinationsmustern von Erythrozyten, Latexteilchen und Kohlenstoffteilchen und zur Feststellung und zum Analysieren verschiedener Charakteristika oder Komponenten des Bluts (z. B. Bluttypen, verschiedene Antikörper, verschiedene Proteine usw.) von Viren usw. in weitem Maße durchgeführt.

Es wurden viele Ausführungsformen von Vorrichtungen der immunologischen Agglutination zur Feststellung von Teilchenagglutinationsmustern untersucht und entwickelt und kamen zur praktischen Verwendung. Als Beispiele dieser Apparate des immunologischen Agglutinationsnachweises können solche genannt werden, die beispielsweise in den japanischen Offenlegungspublikationen Nr. 57-79 454, 59-98 709 und 60-1 35 748 sowie der japanischen Gebrauchsmusterpublikation 61-45 479 und anderen genannt sind.

Gemäß der oben erwähnten japanischen Gebrauchsmusterpublikation Nr. 61-45 479 wird ein Bild, das auf einer umgekehrten, konischen, geneigten Unterseite eines Reaktionsbehälters, der durch eine Punktlichtquelle beleuchtet ist, gebildet wurde, durch eine Linse auf eine Bildfläche projiziert. Ein lichtempfangendes Element ist vorgesehen zum Empfang des auf der abbildenden Fläche gebildeten Lichtbildes. Das Empfangselement wird durch eine Abtastvorrichtung abgetastet, und das Bild wird in ein elektrisches Signal mit Zeitablauf in Übereinstimmung mit der Intensität des Lichtbildes und entlang der Abtastrichtung umgewandelt. Das lichtempfangende Element ist mit einer einfallenden Öffnung bzw. Blende versehen, welche im allgemeinen gleich oder kleiner als das Bild des Agglutinationsmusters, das auf dem allgemeinen, zentralen Teil der Bodenfläche des Reaktionsbehälters gebildet wird, ist, wenn in einem nicht-agglutinierten Zustand vorliegend. Ein Verstell- bzw. Verschiebemechanismus ist erforderlich, um zu veranlassen, daß die Abtastlinie den untersten Teil des Reaktionsbehälters passiert. Daher liegt die Unzulänglichkeit vor, daß die Konstruktion notwendigerweise kompliziert wird. Auch muß ein Schlitz, der die Einfallsöffnung des lichtempfangenden Elements bildet, hinsichtlich seiner Öffnungsdimension, Form usw. eingestellt werden, da

die Größe der nach der Reaktion gebildeten Agglutinationskörper davon abhängt, ob ein starker oder schwächer Grad der immunologischen Agglutination für die Testprobe vorliegt. Eine weitere Schwierigkeit besteht darin, daß viel Zeit und Arbeit zur Durchführung solcher Einstellungsarbeiten erforderlich sind.

In dem Stand der Technik, wie er in der erwähnten japanischen Offenlegungspublikation 57-79 454 beschrieben ist, wird ebenfalls eine Technik zum gleichzeitigen Zusammenlaufen eines Lichtstrahls bzw. -bündels, der auf eine Vielzahl von Reaktionsgefäßern strahlt, zu einem einzigen, lichtempfangenden Teil durch eine einzige Linse angewandt (gemeinsames optisches System). Demgemäß werden unter Bezugnahme auf Fig. 11 die Bilder der Agglutinationsmuster, welche auf den Bodenflächen einer Vielzahl von Reaktionsbehältern gebildet werden, durch eine einzige Linse 101 auf ein zweidimensionales, lichtempfangendes Element 100 projiziert und abgebildet, das größer ist als die Dimension des Reaktionsbehälters 25 einer Mikroplatte 26, die als Agglutinationsprüfplatte verwendet wird, um die Agglutinationsmuster zu bestimmen. Wenn die Agglutinationsmuster durch dieses Verfahren bestimmt werden, hat dies den Nachteil, daß ein Bild, das auf den peripheren Teil projiziert wird, verzerrt und defokussiert wird und eine korrekte Bestimmung nicht zu erhalten ist. Auch werden die Lichtstrahlen, welche auf gegenseitig benachbarte Reaktionsbehälter gestrahlt werden, leicht gegenseitig durch unregelmäßige Reflexionen beeinträchtigt,

die durch die Gestaltung der Reaktionsgefäße verursacht sind, usw. Außerdem wird in diesem Fall die Brennweite der Linsen lang. Infolgedessen besteht auch die Unzulänglichkeit, daß der gesamte Apparat notwendigerweise in seiner Größe beträchtlich groß wird.

Gemäß dem Stand der Technik, wie er in der oben erwähnten japanischen Patentveröffentlichung Nr. 59-98 709 beschrieben ist, wird eine Mikroplatte mit darauf gebildeten Reaktionsbehältern einheitlich durch Licht beleuchtet, das aus einer Fixpunktlichtquelle durch eine Beleuchtungslinse (in diesem Fall wird eine kostspielige Kollimatorlinse verwendet) und eine Streubzw. Mattscheibe (Lichtstreuplatte) hindurch ausgestrahlt wird, und ein Bild auf einer konischen Grundfläche jedes Reaktionsbehälters auf eine lichtempfangende Fläche oder photoempfindliche Fläche eines beweglichen, lichtempfangenden Elements durch eine bildzeugende Linse abgebildet. Infolgedessen ist die Stellungsbeziehung zwischen der Lichtquelle und dem lichtempfangenden Element instabil, und es ist ein hochgenauer Stellungsmechanismus erforderlich, um die richtigen relativen Stellungen der beiden zu ermöglichen. Infolgedessen besteht die Schwierigkeit, daß die Konstruktion notwendigerweise kompliziert wird.

Nach dem Stand der Technik, wie er in der oben erwähnten japanischen Patentveröffentlichung Nr. 60-1 35 748 beschrieben ist, ist eine Technik vorgesehen zur intermittierenden Verlagerung der Mikroplatte, auf der die Reaktionsbehälter gebildet sind. Dies ist geeignet für Reaktionen einer starken Agglutinationskombinierungskraft, jedoch nicht für eine Reaktion mit schwacher Agglutinierungsvereinigungskraft.

Um die Unzulänglichkeiten des Standes der Technik überwinden zu können, ist es ein erstes Ziel der vorliegenden Erfindung, einen Apparat zur Feststellung der immunologischen Agglutination zu schaffen, wobei der gesamte Apparat miniaturisiert werden kann und das Agglutinationsmuster der Erythrozyten in einem Reaktionsbehältnis mit hoher Genauigkeit bestimmt werden

kann. Ein zweites Ziel der Erfindung ist es, einen Apparat, wie erwähnt, zu schaffen, der besonders geeignet ist, die Ermittlungsgeschwindigkeit zu erhöhen, ohne auf die Zuverlässigkeit der Ergebnisse der Tests zu verzichten, und der auch in der Lage ist, die Kosten zu reduzieren.

Zusammenfassung der Erfindung

Gemäß der vorliegenden Erfindung schließt ein Apparat zum Nachweis der immunologischen Agglutination eine Platte zur Bestimmung der immunologischen Agglutination ein, umfassend eine Mehrzahl von Reaktionsgefäßern, die auf einem Substrat in einer Matrix oder Gittermuster angeordnet sind. Jedes Reaktionsgefäß hat eine Bodenfläche. Mindestens ein Teil der Bodenfläche jedes der Reaktionsgefäße ist als geneigte oder umgekehrte, konische Fläche ausgebildet. Lichtaussendende Mittel sind auf einer Seite der die immunologische Agglutination nachweisenden Platte angeordnet, und lichtempfangende Mittel sind auf der anderen Seite derselben angeordnet. Jedes Lichtbild der Agglutinationsmuster, gebildet auf der Bodenfläche der Vielzahl der Reaktionsgefäße durch Ausstrahlen von Licht aus den lichtaussendenden Mitteln, wird auf den lichtempfangenden Mitteln durch eine Linse abgebildet. Die Agglutinationsmuster werden durch eine elektrische Nachweistechnik nachgewiesen. Gemäß einem ersten Merkmal der Erfindung umfaßt der die immunologische Agglutination nachweisende Apparat Haltemittel zum Einbau oder Zusammenbau der lichtaussendenden Mittel und der lichtempfangenden Mittel zur Entfernung als integrale Einheit. Die Einbaueinheit ist in der Lage, sich reziprok zu verschieben entlang Reihen oder Linien der Reaktionsbehälter, welche in der Matrix oder Gittermuster angeordnet sind. Dadurch kann das oben erwähnte erste Ziel der Erfindung erreicht werden.

Nach einem zweiten Aspekt der Erfindung umfassen die lichtempfangenden Mittel eine Reihe von festen Bildaufnahmesensoren, die in der Lage sind, Bilder der Agglutinationsmuster, die auf den Bodenflächen von wenigstens zwei der Reaktionsgefäße gebildet sind, gleichzeitig festzustellen. Die festen Bildaufnahmesensoren sind entlang der Reihen oder Zeilen der Reaktionsbehälter angeordnet, die in einer Matrix oder Gitterform derart angeordnet sind, daß der benachbarte Festbildaufnahmesensor sich teilweise überlappt. Dadurch kann das oben erwähnte zweite Ziel erreicht werden.

In der folgenden Beschreibung wird ein Test zur Bestimmung eines AB0-Bluttypsystems vom Menschen als Beispiel eines immunologischen Agglutinationsverfahrens verwendet.

Im allgemeinen können, wenn Menschen in Übereinstimmung mit dem AB0-Bluttypsystem klassifiziert werden, alle in vier Bluttypen eingeteilt werden; Typ A, Typ B, Typ AB und Typ 0.

Um jeden Bluttyp durch diesen Bluttypenbestimmungstest zu identifizieren, wird von Patienten oder den zu testenden Personen gesammeltes Blut gewöhnlich zunächst in Erythrozyten und Blutserum mittels Zentrifugieren getrennt.

Wenn die Erythrozyten und das Blutserum der oben erwähnten vier Bluttypen vermischt werden, so tritt ein Agglutinationsphänomen teilweise auf, wobei die Erythrozyten und das Blutserum gegenseitig verkleben, wie in der folgenden Tabelle 1 gezeigt ist. Dadurch ist es möglich, jeden der Bluttypen zu identifizieren.

Tabelle 1

Agglutinationsreaktion mittels Vermischen von Erythrozyten und Blutserum

Bluttyp	Erythrozyten			
	Typ 0	Typ A	Typ B	Typ AB
Blutserum				
Typ 0	X	0	0	0
Typ A	X	X	0	0
Typ B	X	0	X	0
Typ AB	X	X	X	X

In der obigen Tabelle bedeutet X, daß keine Agglutination auftrat, und 0 bedeutet, daß eine Agglutination auftrat.

Wie aus der obigen Tabelle ersichtlich ist, sind die Erythrozyten vom Typ 0 verschieden von den Erythrozyten vom Typ A, Typ B und Typ AB, während die Erythrozyten vom Typ AB der Natur der Erythrozyten sowohl von Typ A als auch Typ B entsprechen.

Bei dieser Ausführungsform werden zwei Probenflüssigkeiten hergestellt, indem Verdünnungslösungen in die diesbezüglichen Erythrozyten jeder Blutgruppe eingebracht werden. Der Bluttyp einer zu testenden Probe wird identifiziert, indem ein Anti-A-Blutgruppenserum (Blutserum Typ B) und ein Anti-B-Blutgruppenserum (Blutserum Typ A) als Identifikationslösungen in jede von ihnen hinzugefügt wird.

Im Falle, daß der Bluttyp der zu testenden Person der Typ A ist, ist eine Blutprobe, welche durch Zugabe von Anti-A-Blutserum agglutiniert wird, jedoch durch Zugabe von Anti-B-Blutserum nicht agglutiniert wird, vom Typ A. Eine Blutprobe, welche durch Zugabe von Anti-A-Blutserum nicht agglutiniert wird, jedoch durch Zugabe von Anti-B-Blutserum agglutiniert wird, ist vom Typ B. Es kann bestimmt werden, daß eine Blutprobe, welche sowohl durch Anti-A- als auch Anti-B-Blutserum agglutiniert wird, vom Typ AB ist und eine Blutprobe, welche sowohl vom Anti-A- als auch Anti-B-Blutserum nicht agglutiniert wird, ist vom Typ 0.

Kurze Beschreibung der Zeichnungen

Fig. 1 ist ein schematischer Querschnitt, der die Konstruktion der ersten Ausführungsform gemäß der Erfindung zeigt;

Fig. 2 ist eine perspektivische Ansicht der lichtempfangenden Einheiten von Fig. 1;

Fig. 3 ist eine Draufsicht, welche ein Beispiel einer tatsächlichen Anordnung der lichtempfangenden Einheiten von Fig. 1 zeigt;

Fig. 4 ist eine perspektivische Ansicht der Mikroplatte von Fig. 1;

Fig. 5 ist eine perspektivische Ansicht der Gesamtheit des Apparats zum Nachweis der immunologischen Aggregationsreaktion gemäß der Ausführungsform von Fig. 1;

Fig. 6 ist eine Ansicht entlang der Linie VI-VI von Fig. 5;

Fig. 7 ist eine perspektivische Ansicht eines Beispiels des CCD-Sensors, der bei der Ausführungsform der Fig. 1 verwendet wird;

Fig. 8 ist eine Draufsicht und zeigt ein Stadium, worin zwei der CCD-Sensoren der **Fig. 7** in Serie verbunden sind;

Fig. 9 ist eine erläuternde Draufsicht der zweiten Ausführungsform gemäß der Erfindung;

Fig. 10 ist eine Ansicht zur Erläuterung der Arbeitsweise von **Fig. 1** und

Fig. 11 ist eine erläuternde Ansicht einer Vorrichtung nach dem Stand der Technik.

Detaillierte Beschreibung

In der folgenden Beschreibung bedeutet hinsichtlich der Reaktionsgefäß 1a der Ausdruck "Reihe" (row) eine Folge von Reaktionsgefäßen, die eines hinter dem anderen angeordnet sind und in der Richtung ausgerichtet sind, wie sich die Platte 17 bewegt, wie durch den Doppelpfeil A in **Fig. 5** gezeigt. Der Ausdruck "Zeile" (line) bedeutet eine Gruppe von Reaktionsgefäßen, die nebeneinander angeordnet sind, d. h. in einer Linie liegen, die sich senkrecht zur Richtung erstreckt, wie sie durch den Pfeil A in **Fig. 5** angezeigt ist. Der Ausdruck "Matrix oder Gittermuster" soll sich auf eine Anordnung der Reaktionsgefäße in gleichen Abständen, senkrecht, reihen- und zeilenbildenden Vierecken beziehen.

Eine erste Ausführungsform gemäß der Erfindung wird im folgenden unter Bezugnahme auf die **Fig. 1** bis 10 beschrieben.

Die in **Fig. 1** gezeigte Ausführungsform umfaßt eine Mikroplatte 1, welche als Agglutinationsprüfplatte arbeitet. Die Mikroplatte 1 besteht aus einem lichtdurchlässigen Substrat 1b, auf dem eine Anzahl von Reaktionsgefäßen 1a mit umgekehrten, kegelförmigen Böden in einer Matrix oder Gittermuster angeordnet ist (vergl. **Fig. 3** und **4**). Lichteussendende Dioden 2A, die als lichtaussendende Mittel verwendet werden, sind auf der einen Seite (Oberseite, wie in **Fig. 1**) der Mikroplatte 1 angeordnet. Jede Diode 2A ist senkrecht nach einem der Reaktionsgefäße 1a ausgerichtet. Ein erster CCD-Sensor 3A, der als Festbildungsaufnahmesensor zur Darstellung der lichtaufnehmenden Mittel verwendet wird, ist auf der anderen Seite (Unterseite in **Fig. 1**) der Mikroplatte 1 angeordnet.

Zwischen den lichteussendenden Dioden 2A und der Mikroplatte 1 sind Streuplatten 31A, 31B parallel zur Mikroplatte 1 und in vorbestimmten Abständen davon angeordnet. Aufgrund der vorstehenden Anordnung wird das Licht auf die Mikroplatte in Form von im allgemeinen parallelen Strahlen gestrahlt. Kondensorlinsen 4 sind zwischen der Mikroplatte 1 und dem Primär-CCD-Sensor 3A angeordnet. Die Kondensorlinsen 4 sind derart angeordnet, daß eine Kondensorlinse 4 für jedes der Reaktionsgefäße 1a vorgesehen ist.

Insbesondere sind Gruppen von Kondensorlinsen 4 in den Linsenhaltern 5 montiert, deren äußeres Aussehen in **Fig. 2** gezeigt ist. Jeder Linsenhalter 5 hat eine Vielzahl von Löchern 5a (vier Löcher in dieser Ausführungsform). Jedes Loch 5a ist vertikal zu einem der Reaktionsgefäße 1a und seiner zugeordneten Diode 2A ausgerichtet. Die Löcher 5a sind räumlich nebeneinander in dem gleichen Abstand eingeteilt wie der Abstand zwischen den benachbarten Reaktionsgefäßen 1a in seitlicher Richtung beträgt, d. h. eine Richtung senkrecht zur Richtung, in der die Platte 17 sich bewegt, wie durch den Pfeil A angezeigt ist. Jede der Kondensorlinsen 4 ist an der Seitenwand des zugehörigen Lochs 5a befestigt. Der Primär-CCD-Sensor 3A wird in dem unteren Teil des

Linsenhalters 5 derart festgehalten, daß er unterhalb von den Kondensorlinsen 4 in einem vorbestimmten Abstand, im allgemeinen dem gleichen Abstand wie die Brennweite der Kondensorlinsen 4, angeordnet ist. Der

- 5 Primär-CCD-Sensor 3A ist parallel zu der Mikroplatte 1. Aufgrund der vorstehenden Anordnung in dieser Durchführungsform werden Abbildungen der Agglutinationsmuster, die auf den Bodenflächen der vier Reaktionsgefäße 1a gebildet sind, wobei die Gefäße in einer 10 Matrix oder Gittermuster auf der Mikroplatte 1 angeordnet sind, durch Ausstrahlen von Licht von den lichtaussendenden Dioden 2A auf dem Primär-CCD-Sensor 3A durch die Kondensorlinsen 4 gebildet. Auf diese Weise können Abbildungen der Agglutinationsmuster, die auf der Bodenfläche der vier Reaktionsgefäße 1a gebildet wurden, gleichzeitig durch den Primär-CCD-Sensor 3A festgestellt werden. Weiterhin wird in diesem 15 Fall aufgrund der Tatsache, daß die Kondensorlinsen 4 in einem der Löcher 5a in dem Linsenhalter 5 gehalten werden, jede Linse 4 kaum durch das Licht, welches durch das benachbarte Reaktionsgefäß 1a übertragen wird, beeinträchtigt.

Bei dieser Ausführungsform umfaßt jede lichtempfangende Einheit 10 einen Primär-CCD-Sensor 3A, vier Kondensorlinsen 4 und einen Linsenhalter 5.

- 20 Die Reaktionsgefäße 1a sind auf der Mikroplatte 1 in einer Matrix oder Gittermuster angeordnet, die bei dieser Ausführungsform aus acht Reihen besteht, welche in zwei Gruppen eingeteilt sind, nämlich die oberen vier 25 Reihen und die unteren vier Reihen, wie in **Fig. 4** aufgezeigt ist. Die Mikroplatte 1 befindet sich auf einer horizontalen Platte 11, die aus einem lichtdurchlässigen (transparenten) Glied hergestellt ist, was einen Teil eines Apparats 20 zum Nachweis der immunologischen 30 Agglutination darstellt, gezeigt in **Fig. 5**. Wie in **Fig. 3** angegeben, ist eine der lichtempfangenden Einheiten 10 mit einer Gruppe der vier Reihen der Reaktionsgefäße 1a verbunden, und die andere lichtempfangende Einheit 10 ist mit der anderen Gruppe der vier Reihen der Reaktionsgefäße 1a verbunden. Bei dieser Ausführungsform 35 ist eine lichtempfangende Einheit 10 der Länge nach versetzt (in Richtung des Pfeils A) von der anderen Einheit mit einer Entfernung, die gleich dem Zweifachen des Abstandes zwischen zwei benachbarten Zeilen ist.

Der Apparat 20 zum Nachweis der immunologischen Agglutination (**Fig. 5**) umfaßt die horizontale Platte 11 und ein Paar Stützglieder 12A, 12B, welche die horizontale Platte 11 von unten an den entgegengesetzten Längsenden der Platte 11 tragen. Eine Verbindungsplatte 12C befindet sich zwischen den unteren Enden der Stützglieder 12A und 12B, um beide zu verbinden und zu fixieren. Weiterhin befindet sich ein Führungsschaft 13 zwischen den Stützgliedern 12A und 12B in Längsrichtung der horizontalen Platte 11, wie in **Fig. 6** gezeigt. Weiterhin ist ein Schaft 14 zwischen den Stützgliedern 12A und 12B vorgesehen. Der Schaft 14 hat die Form eines Außengewindes einer Kugelumlaufspindel entlang der gesamten Länge derselben. Der Schaft 14 ist parallel mit dem Führungsschaft 13 und wird zur Rotation auf den Teilen 12A und 12B gestützt.

- 45 Ein Kasten 15, der in **Fig. 5** und **6** gezeigt ist, ist auf den beiden Schäften 13 und 14 beweglich montiert, um darauf eine Hin- und Herbewegung in Längsrichtung durchzuführen. Der Kasten 15 hat ein erstes Loch 15a mit einem Durchmesser, der fast der gleiche ist wie derjenige des Schafes 13, und ein zweites Loch 15b mit einem Durchmesser, der fast der gleiche ist wie derjenige des Schafes 14. Auch enthält der Kasten 15 darin den

Hohlschrauben- bzw. Schraubenmutterteil (nicht gezeigt) einer Kugelumlaufspindelvorrichtung. Die Rotation des Schaftes 14 veranlaßt den Kasten 15, in Längsrichtung infolge der Wirkung der Gewindespindel mit Kugelmutter zu wandern. Der Schaft 13 führt eine derartige Längsbewegung des Kastens 15.

Eine bewegliche Platte 16 ist an der oberen Fläche des Kastens 15 befestigt, um die lichtempfangenden Teile 10 darauf zu montieren. Die Platte 16 ist parallel mit der horizontalen Platte 11 angeordnet. An der oberen Fläche der beweglichen Platte 16 sind Stützplatten 18A und 18B vorgesehen zur Stützung der gegenüberliegenden Enden einer oberen Platte 17. Die lichtaussendenden Dioden 2A und die Platten 31A und 31B sind an der unteren Fläche der oberen Platte 17 befestigt. Die Dioden 2A sind senkrecht zur beweglichen Platte 16. Ein LED-Diodenantrieb 8 zum Betreiben der lichtaussendenden Dioden 2A ist auf der unteren Fläche der Platte 17 montiert.

Auf der oberen Fläche der beweglichen Platte 16 ist ein Substrat 19 derart fixiert, daß es parallel mit der beweglichen Platte 16 ist. Auf diesem Substrat 19 ist ein CCD-Antrieb 9 zum Betreiben des Primär-CCD-Sensors 3A montiert.

Weiterhin sind die beiden lichtempfangenden Einheiten 10, welche die vorerwähnte Konstruktion haben, auf der oberen Fläche der beweglichen Platte 16 in der Anordnung gemäß Fig. 2 und 3 angeordnet. Die lichtempfangenden Einheiten 10 sind parallel und in Längsrichtung versetzt voneinander in der Richtung, die durch den Pfeil A, wie oben erwähnt, angegeben ist. Die benachbarten Enden der lichtempfangenden Einheiten 10 überschneiden einander. Die lichtempfangenden Einheiten 10, 10 sind durch ein Verbindungsglied 10A, gezeigt in den Fig. 2 und 3, miteinander verbunden. Die vier Löcher 5a jeder Einheit 10 sind voneinander mit einem Abstand entfernt, der gleich dem Abstand zwischen den benachbarten Reaktionsgefäß 1a in einer gegebenen Zeile ist.

Jenseits der Stützglieder 12A ist ein Motor 21 angeordnet, um den Schaft 14 durch ein nicht dargestelltes Getriebe rotieren zu lassen. Aufgrund der obigen Anordnung in dieser Ausführungsform werden, wenn der Motor 21 betrieben wird, die bewegliche untere Platte 16 und die obere Platte 17 integral (gemeinsam) wechselweise als eine Einheit in der Richtung, die durch den Pfeil A in Fig. 5 angegeben ist, zusammen bewegt, so daß die lichtempfangenden Einheiten 10 sich der Länge nach entlang der Reihen der Reaktionsgefäß 1a, die in einer Matrix oder Gittermuster auf der Mikroplatte 1 angeordnet sind, bewegen. Die horizontale Platte 11 und die Mikroplatte 1 bleiben während der Bewegung der oberen und unteren Platten 16 und 17 feststehend.

Als Primär-CCD-Sensor 3A wird in dieser Ausführungsform ein Primär-CCD-Sensor für allgemeine Zwecke, gezeigt in Fig. 7, verwendet. Der Primär-CCD-Sensor 3A ist mit einer Vielzahl von photoelektrischen Umwandlungselementen als optische Sensoren versehen, die in einer einzigen Reihe auf ihrer lichtaufnehmenden Seite angeordnet sind. Aufgrund der vorstehenden Anordnung werden die Lichtbilder der Agglutinationsmuster, die auf den Bodenflächen der Reaktionsgefäß 1a gebildet wurden, in kleine Teile aufgeteilt durch die Vielzahl der photoelektrischen Umwandlungselemente und werden in ein elektrisches Signal umgewandelt durch die diesbezüglichen photoelektrischen Umwandlungselemente in Übereinstimmung mit der Inten-

sität des Lichts. Bei dieser Ausführungsform wird dieses elektrische Signal zu einer nicht dargestellten Zentraleinheit bzw. Zentralrechner CPU (central processing unit) gesandt durch einen nicht dargestellten A/D(Analog/Digital)-Umwandler und die CPU (Zentraleinheit bzw. Zentralrechner) bestimmt das Agglutinationsmuster.

Im folgenden wird die Arbeitsweise des die immuno-
logische Agglutination nachweisenden Apparats 50, wie
10 vorstehend erwähnt, beschrieben.

Wenn der Motor 21 schrittweise angetrieben wird, werden die beweglichen Platten 16 und 17 schrittweise in einem Stück bewegt, so daß die lichtempfangenden Einheiten 10, gezeigt in Fig. 2, entlang ihrer zusammengefaßten Gruppen von vier Reihen der Reaktionsgefäß 1a in der Richtung, die durch den Pfeil A angezeigt ist, bewegt werden, bis die lichtempfangenden Einheiten 10 vertikal mit den entsprechenden Zeilen der Reaktionsgefäß 1a, wie in Fig. 3 gezeigt, ausgerichtet werden. Dann wird Licht von den lichtaussendenden Dioden 2A auf die Mikroplatte 1 durch die lichtstreuenden Platten 31A und 31B gestrahlt, und die betreffenden Lichtbilder der Agglutinationsmuster, gebildet auf den Bodenflächen der acht Reaktionsgefäß 1a, die vertikal mit den lichtempfangenden Einheiten 10 ausgerichtet sind, werden auf den Primär-CCD-Sensoren 3A durch die betreffenden Kondensorlinsen 4 abgebildet. Ausgangssignale von den Primär-CCD-Sensoren 3A und 3A werden zu der nicht dargestellten CPU durch den A/D-Umwandler (nicht dargestellt) gesandt. Die CPU bestimmt die Entfernung, in die sich die bewegliche Platte 16 bewegt hat, bezogen auf die Dauer der Rotation des Motors 21, und bestimmt, welche Reaktionsbehälter getestet werden. Die Agglutinationsmuster der getesteten Körper in den betreffenden Reaktionsbehältern 1a werden automatisch bestimmt.

Ein Beispiel einer solchen Bestimmung wird im folgenden beschrieben.

Bei der oben erwähnten Bestimmung des AB0-Bluttypsystems werden Massen von Erythrozyten, kombiniert miteinander durch Blutserum, wenn eine Agglutinationsreaktion stattgefunden hat, einheitlich auf den konischen Bodenflächen der Reaktionsbehälter 1a wie Schneeflocken angesammelt. Wenn die Agglutinationsreaktion nicht stattgefunden hat, so setzen sich die Erythrozyten in einem wechselseitig gestreuten Zustand und ohne Vereinigung mit dem Blutserum ab. Wenn die Erythrozyten die konische Bodenfläche erreichen, fallen sie entlang der geneigten Fläche hinunter und werden in 50 dem mittleren Teil der Bodenfläche angesammelt und angehäuft.

Fig. 10 zeigt eine vergrößerte Bodenfläche des Reaktionsgefäßes 1a.

In diesem Beispiel beträgt der Radius der Bodenfläche des Reaktionsgefäßes 1a 6 mm, die Tiefe des geneigten Teils ist 1,5 mm, der Neigungswinkel ist 30°, und die Teilchen sind agglutiniert und gleichmäßig auf der konischen Bodenfläche angehäuft. Ein solches gleichmäßig angehäuftes Muster kann erhalten werden, wenn beispielsweise in dem Bestimmungstest des AB0-Bluttypsystems ein Testkörper vom Typ A (Erythrozyten-schwemmlösung) mit einem Anti-A-Blutgruppenserum (Typ B Blutserum) vermischt und natürlich ausgefällt wird. Dies ist der Fall, weil die Erythrozyten miteinander durch das Blutserum vereinigt werden, es ist selten, daß die Teilchen an der geneigten Fläche gegen die Mitte hinuntergleiten, und daher sind die Teilchen im allgemeinen auf der Bodenfläche einheitlich angehäuft.

Wenn ein solches einheitlich angehäuftes Muster genauer beobachtet wird, sind die Teilchen schwer angehäuft an der Stelle A in dem mittleren, untersten Teil, während nur eine verhältnismäßig dünne Schicht von Teilchen an dem Ort C nahe am Seitenteil der geneigten Wand angehäuft sind. An einem dazwischen gelegenen Ort B ändert sich die Dicke im allgemeinen kontinuierlich. In diesem Fall hat die Menge des durchgelassenen Lichts einen minimalen Wert am Ort A und steigt allmählich, wenn man gegen den peripheren Teil von Ort A weggeht, und hat dann einen maximalen Wert am Ort C. Demgemäß wird, in dem Maße sich die Ausgangsleistung des Primär-CCD-Sensors 3A entsprechend ändert, durch CPU bestimmt, daß es ein einheitlich angehäuftes Muster ist (das Blut des Testkörpers ist hier Typ A).

Wie vorstehend beschrieben, sind gemäß einer ersten Ausführungsform die beiden lichtempfangenden Einheiten 10, wie in den Fig. 2 und 3 gezeigt, durch das Bindeglied 10A derart miteinander verbunden, daß sie sich teilweise in seitlicher Richtung überschneiden und eine sog. "kurbelförmige Anordnung" bilden, und die Primär-CCD-Sensoren 3A, welche auf den Bodenteilchen der betreffenden, lichtempfangenden Einheiten 10 montiert sind, sind entlang einer Gruppe von vier Reaktionsgefäßbündeln in verschiedenen Zeilen der Reaktionsgefäße 1a angeordnet, welche in einer Matrix oder Gittermuster auf der Mikroplatte 1 vorhanden sind. Infolgedessen können, selbst wenn ein CCD-Sensor für allgemeine Zwecke verwendet wird, solche Probleme wie das Auftreten von nicht bestimmmbaren Teilen P und Q an den Enden zwischen den benachbarten Allzweck-CCD-Sensoren gelöst werden, wenn, wie in Fig. 8 gezeigt, zwei oder mehr CCD-Sensoren in Reihe in ausgerichteter Weise angeordnet sind. Ferner können die Bilder der Agglutinationsmuster, welche auf der Bodenfläche der Reaktionsgefäße 1a, angeordnet in einer Matrix oder Gittermuster auf der Mikroplatte 1, gebildet wurden, zu acht gleichzeitig nachgewiesen werden, d. h. die Bilder, angeordnet in zwei Gruppen jeweils von vier Bildern, können gleichzeitig nachgewiesen werden. Als Ergebnis kann die Agglutinationsreaktion der Testkörper in allen Reaktionsgefäßbündeln 1a auf der Mikroplatte 1 lediglich durch Scannen in einer Richtung festgestellt werden, d. h. Bewegung der Platten 16, 17 in einer Richtung von einem Längsende der Mikroplatte 1 zu dem anderen Längsende. Daher ergibt sich der Vorteil, daß die Zeit, welche für den Test erforderlich ist, außerordentlich reduziert werden kann im Vergleich mit einem zweiwegigen Scannen entlang sowohl der Zeilen als auch der Reihen. Weiterhin werden die lichtaussendenden Dioden 2A und die Primär-CCD-Sensoren 3A in einem Stück gehalten durch den Rahmen, der die Platten 16, 17, 18A und 18B umfaßt und als Einheit bewegt wird. Infolgedessen ist es ein weiterer Vorteil, daß die Stellungsbeziehung zwischen den Dioden und Sensoren fixiert ist, um die Genauigkeit des Tests zu erleichtern. Darüber hinaus kann das Antriebssystem vereinfacht werden, da nur eine Bewegung in einer Richtung erforderlich ist.

Da eine komplizierte Stellungssteuerung nicht erforderlich ist, kann der Einstellmechanismus vereinfacht oder weggelassen werden, wodurch es möglich wird, daß der Apparat in diesem Ausmaß miniaturisiert wird. Außerdem werden aufgrund der Tatsache, daß die Mikroplatte 1 auf der Platte 11 fixiert ist und sich nicht bewegt, die agglutinierten und in den Reaktionsgefäßbündeln 1a angehäuften Teilchen nicht gestört oder durch Vibra-

tion verteilt usw., und die Ergebnisse der Agglutination können stabil gehalten werden.

Obzwär bei dieser Ausführungsform ein Primär-CCD-Sensor als fester Bildaufnahmesensor verwendet wird, ist die vorliegende Erfindung nicht notwendigerweise auf diesen beschränkt, und ein Sekundär-CCD-Sensor usw. kann verwendet werden. Außerdem ist bei dieser Ausführungsform zwar als Beispiel ein Fall gewählt, worin der Primär-CCD-Sensor vier Agglutinationsbilder als eine Gruppe projiziert, so kann jedoch die Anzahl der zu projizierenden Agglutinationsbilder nach Wunsch erfolgen, je nach der Größe des CCD-Sensors, der verwendet wird.

Eine weitere Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist unter Bezugnahme auf Fig. 9 beschrieben.

In dieser zweiten Ausführungsform sind vier lichtempfangende Einheiten 10 vorgesehen. Diese lichtempfangenden Einheiten 10 sind entlang vier verschiedener Zeilen der Reaktionsgefäße 1a der Mikroplatte 1 derart angeordnet, daß die benachbarten Enden der lichtempfangenden Einheiten 10, 10 sich teilweise seitlich überschneiden, wie in Fig. 9 gezeigt. Solche lichtempfangenden Einheiten 10 sind durch Verbindungsglieder 10A, wie bei der ersten Ausführungsform, verbunden und sind auf der beweglichen Platte 16 montiert. Der Rest der Konstruktion ist der gleiche wie der bei der vorstehend erwähnten ersten Ausführungsform.

Wenn die Erfindung in dieser Weise durchgeführt wird, kann die gleiche Funktion und Wirkung wie diejenige der vorstehend erwähnten ersten Ausführungsform erzielt werden. Zusätzlich kann die Gesamtzahl der Bewegungen der beweglichen Platte 16 reduziert werden. Als Ergebnis kann die für den Test erforderliche Zeit erheblich verkürzt werden.

Gemäß der Erfindung werden die lichtaussendenden Mittel und die lichtempfangenden Mittel in einem Stück durch die Montage- bzw. Einbaumittel gehalten und als eine Einheit bewegt. Infolgedessen kann, da die Stellungsbeziehung zwischen den beiden fixiert und eine komplizierte Einstellungskontrolle nicht erforderlich ist, der Einstellmechanismus vereinfacht oder weggelassen werden. Als Ergebnis kann der gesamte Apparat miniaturisiert werden. Weiterhin werden, da die Agglutinationsprüfplatte fixiert ist, die agglutinierten und in dem Reaktionsgefäß angehäuften Teilchen nicht durch die Vibration durcheinandergewirbelt usw., das Ergebnis der Reaktion kann stabil gehalten werden, und die Agglutinationsmuster der Testkörper in dem Reaktionsgefäß können mit viel höherer Genauigkeit festgestellt werden.

Erfindungsgemäß kann, wenn ein Primär-CCD-Sensor für allgemeine Zwecke als Festbildaufnahmeelement verwendet wird, ein Reihenteil der Agglutinationsreaktion der Testkörper in den Reaktionsgefäßbündeln, die in einer Matrix oder Gittermuster vorhanden sind, zu einer Zeit nachgewiesen werden, und alle auf der Platte zu testenden Körper können durch nur eine Bewegung in einer Richtung getestet werden. Dadurch kann die Nachweisgeschwindigkeit erhöht werden ohne Verzicht auf die Zuverlässigkeit der Testergebnisse, und die Kosten können erheblich gesenkt werden. Wie aus der vorstehenden Beschreibung ersichtlich, kann auf diese Weise ein ausgezeichneter Apparat zum Nachweis der immunologischen Agglutination geschaffen werden.

Die Bezeichnung CCD, wie vorstehend verwendet, bedeutet Charge Coupled Device oder Photoelementanordnung, die von Mr. Boyle und seinen Mitarbeitern

der USA Bell Laboratory 1970 erfunden ist und die ein Halbleiterfunktionslement ist.

Patentansprüche

5

1. Apparat zum Nachweis der immunologischen Agglutination, umfassend
eine Prüfplatte, die ein Substrat mit einer Vielzahl von Reaktionsbehältern enthält, die auf diesem Substrat in einem Gittermuster einer Vielzahl von Reihen und einer Vielzahl von Zeilen, die sich senkrecht zu diesen Reihen ausdehnen, angeordnet sind, wobei jedes dieser Reaktionsgefäß eine Bodenfläche, von der mindestens ein Teil geneigt ist, aufweist;
Lichtaussendemittel, die auf einer Seite dieser Prüfplatte angebracht sind;
Linsen, die auf der gegenüberliegenden Seite dieser Prüfplatte angebracht sind, und lichtempfangende Mittel, die auf der gegenüberliegenden Seite der und unter diesen Linsen und dieser Prüfplatte angebracht sind, so daß die auf den Bodenflächen dieser Reaktionsgefäß gebildeten Agglutinationsmuster mit Licht aus diesen lichtaussendenden Mitteln bestrahlt werden können und Lichtanzeichen des Agglutinationsmusters durch diese Linsen fokussiert werden und zu den lichtaufnehmenden Mitteln übertragen werden können, so daß das Agglutinationsmuster gemessen werden kann;
und entsprechende bzw. hin- und herbewegbare Rahmen zum Halten dieser lichtaussendenden Mittel, dieser Linsen und dieser lichtempfangenden Mittel als einzige Einheit zur gleichzeitigen Bewegung entlang entweder der Reihen oder Zeilen dieses Gittermusters. 35
2. Apparat gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Bodenfläche jedes Reaktionsgefäßes eine umgekehrte Kegelform hat.
3. Apparat gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die genannten Linsen eine Vielzahl von Linsen und gleich der Anzahl der Reaktionskammern hat, wobei die lichtaussendenden Mittel eine Vielzahl von lichtaussendenden Dioden in der Anzahl gleich der Zahl der Reaktionskammern hat, wobei jeder der Reaktionsbehälter vertikal mit einer dieser Linsen und einer lichtaussendenden Diode ausgerichtet ist. 45
4. Apparat gemäß Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß alle lichtaussendenden Dioden in einer ersten horizontalen Ebene liegen, alle genannten Gefäße in einer zweiten horizontalen Ebene liegen und alle der genannten Linsen in einer dritten horizontalen Ebene liegen, wobei die erste, zweite und dritte Ebene parallel und in vertikalen Abständen voneinander liegen und das lichtempfangende Mittel ein ebener, horizontaler, lichtempfindlicher Sensor ist, der parallel zu der dritten Ebene und in vertikalem Abstand unterhalb dieser dritten Ebene liegt. 55
5. Apparat gemäß Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Linsen in einem Linsenhalter montiert sind, wobei dieser Wände zum Isolieren des Lichts aus jedem Behälter hat, so daß jede Linse Licht im wesentlichen nur von einem Reaktionsgefäß empfängt. 60
6. Apparat gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das lichtaufnehmende Mittel eine Vielzahl von Bildaufnahmesensoren umfaßt, wovon

12

jeder in der Lage ist, Bilder der Agglutinationsmuster, die auf den Bodenflächen von wenigstens zwei der Reaktionsgefäß gebildet wurden, zu einer Zeit festzustellen und diese Bildaufnahmesensoren in bezug auf dieses Gitter derart angeordnet sind, daß die benachbarten Enden der Aufnahmesensoren sich untereinander in den Reihen oder Zeilen des Gittermusters überschneiden.

7. Apparat zum Nachweis der immunologischen Agglutination, umfassend
eine Prüfplatte, die ein Substrat mit einer Vielzahl von Reaktionsgefäß en enthält, die auf diesem Substrat in einem Gittermuster einer Vielzahl von Reihen und einer Vielzahl von Zeilen, die senkrecht zu diesen Reihen stehen, angeordnet sind, wobei jedes der Reaktionsgefäß e eine Bodenfläche hat, wovon wenigstens ein Teil geneigt ist;
lichtaussendende Mittel, die auf einer Seite der Prüfplatte angeordnet sind;
Linsen, die auf der gegenüberliegenden Seite der Prüfplatte angeordnet sind und lichtempfangende Mittel auf der gegenüberliegenden Seite und unterhalb der Linsen und der Prüfplatte derart angeordnet sind, daß die auf der Bodenfläche der Reaktionsbehälter gebildeten Agglutinationsmuster bestrahlt werden können mit Licht aus den lichtaussendenden Mitteln und Licht, hinweisend auf das Agglutinationsmuster, durch die genannten Linsen fokussiert und zu den lichtaufnehmenden Mitteln übertragen werden können;
wobei die lichtempfangenden Mittel eine Vielzahl von Bildaufnahmesensoren umfassen, deren jeder in der Lage ist, Abbildungen von Agglutinationsmustern, die auf den Bodenflächen von wenigstens zwei der genannten Reaktionsbehälter gebildet wurden, zu einer Zeit nachzuweisen, und diese Bildaufnahmesensoren in bezug auf das Gitter derart angeordnet sind, daß die benachbarten Enden dieser Aufnahmesensoren untereinander entweder in den Reihen oder den Zeilen des genannten Gittermusters sich überschneiden.
8. Apparat gemäß Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Bodenfläche jedes Reaktionsbehälters eine umgekehrte Kegelform hat.
9. Apparat gemäß Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Linsen eine Vielzahl von Linsen umfaßt, die in der Zahl gleich der Anzahl der Reaktionsgefäß e ist, und das lichtaussendende Mittel eine Vielzahl von lichtaussendenden Dioden aufweist, in der Zahl gleich der Zahl der Reaktionsgefäß e, wobei jedes Reaktionsgefäß mit einer der Linsen und einer der aussendenden Dioden vertikal ausgerichtet ist.
10. Apparat gemäß Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß alle lichtaussendenden Dioden in einer ersten horizontalen Ebene liegen, alle genannten Gefäße in einer zweiten horizontalen Fläche liegen und alle Linsen in einer dritten horizontalen Fläche liegen, wobei die erste, zweite und dritte Ebene parallel und voneinander vertikal räumlich getrennt sind und diese lichtempfangenden Mittel ein planer, horizontaler, lichtempfindlicher Sensor ist, der parallel mit und in vertikalem Abstand unterhalb der genannten dritten Ebene liegt.
11. Anspruch gemäß Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Linsen in einem Linsenhalter montiert sind, wobei dieser Wände zur Isolation des Lichts von jedem Gefäß umfaßt, so daß jede

DE 40 13 588 A1

13

14

**Linse im wesentlichen nur von einem Gefäß Licht
erhält.**

Hierzu 7 Seite(n) Zeichnungen

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

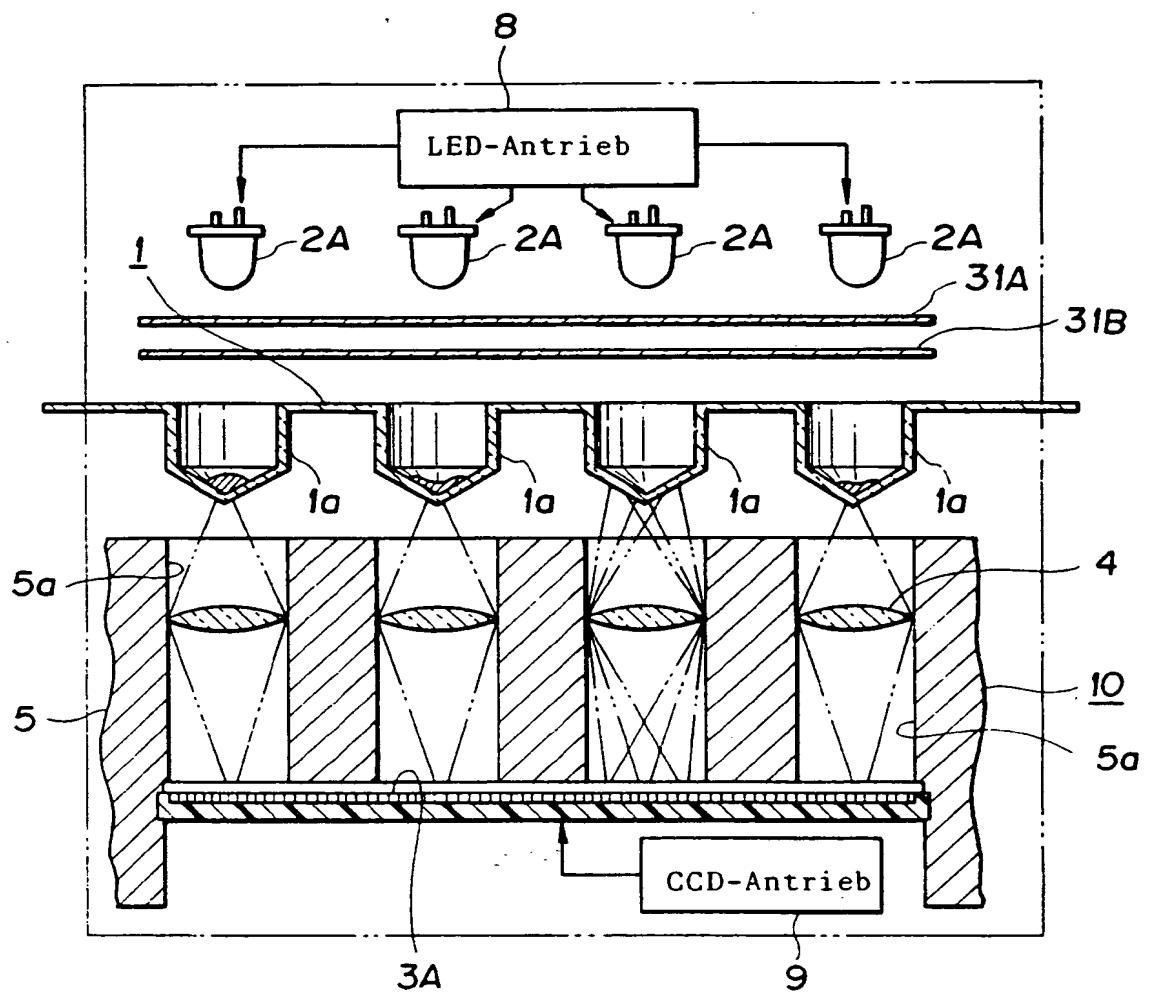
55

60

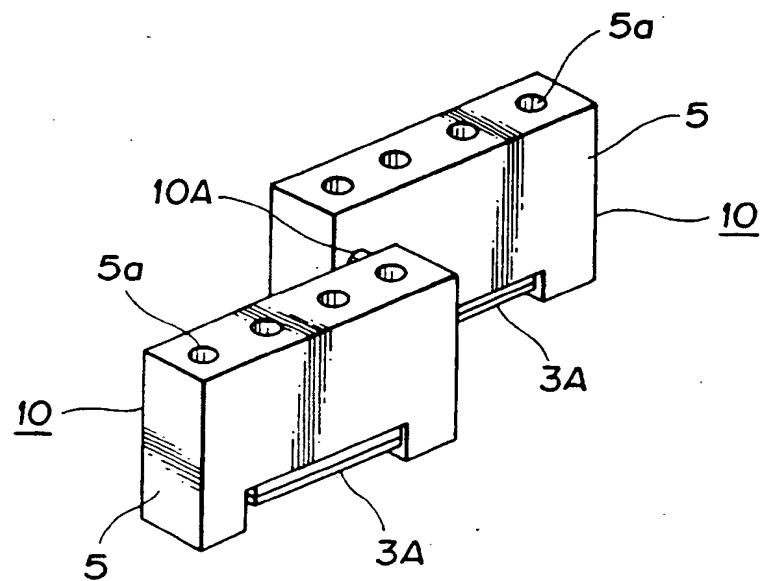
65

— Leerseite —

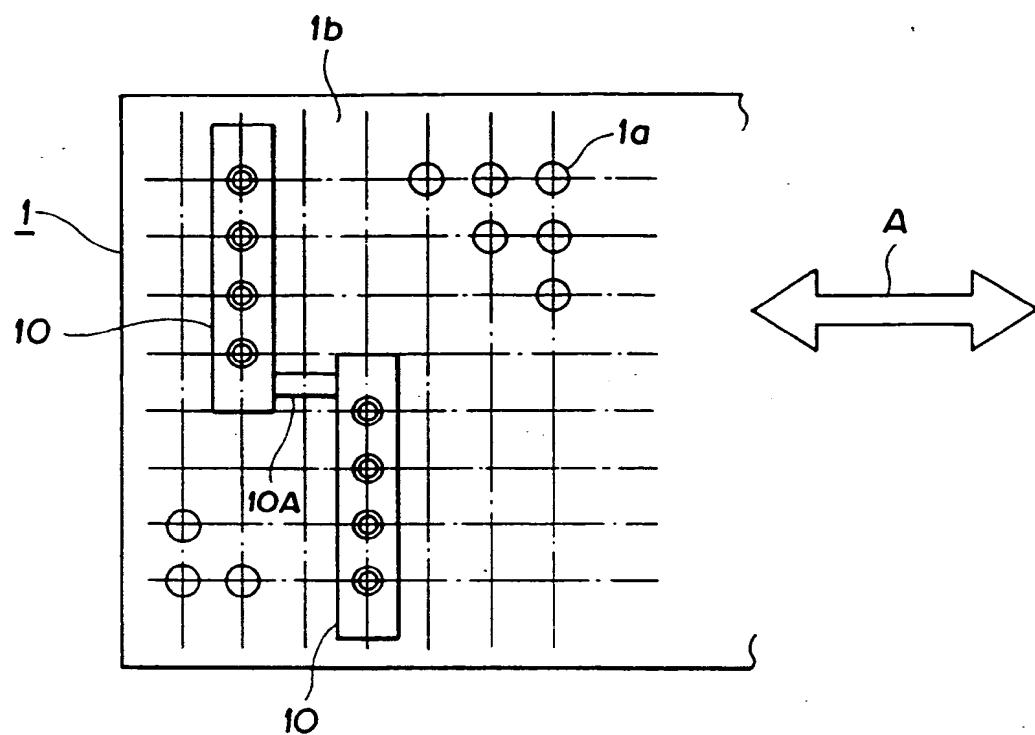
FIG. 1



F I G. 2



F I G. 3



F I G. 4

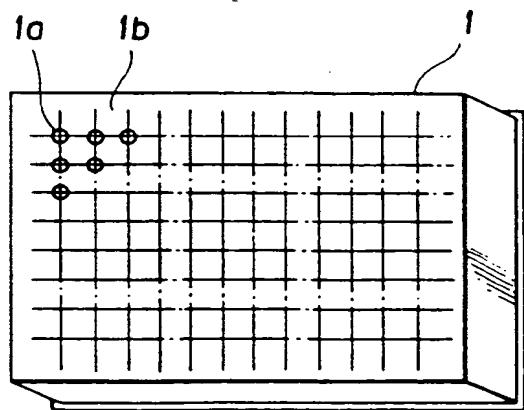


FIG. 5

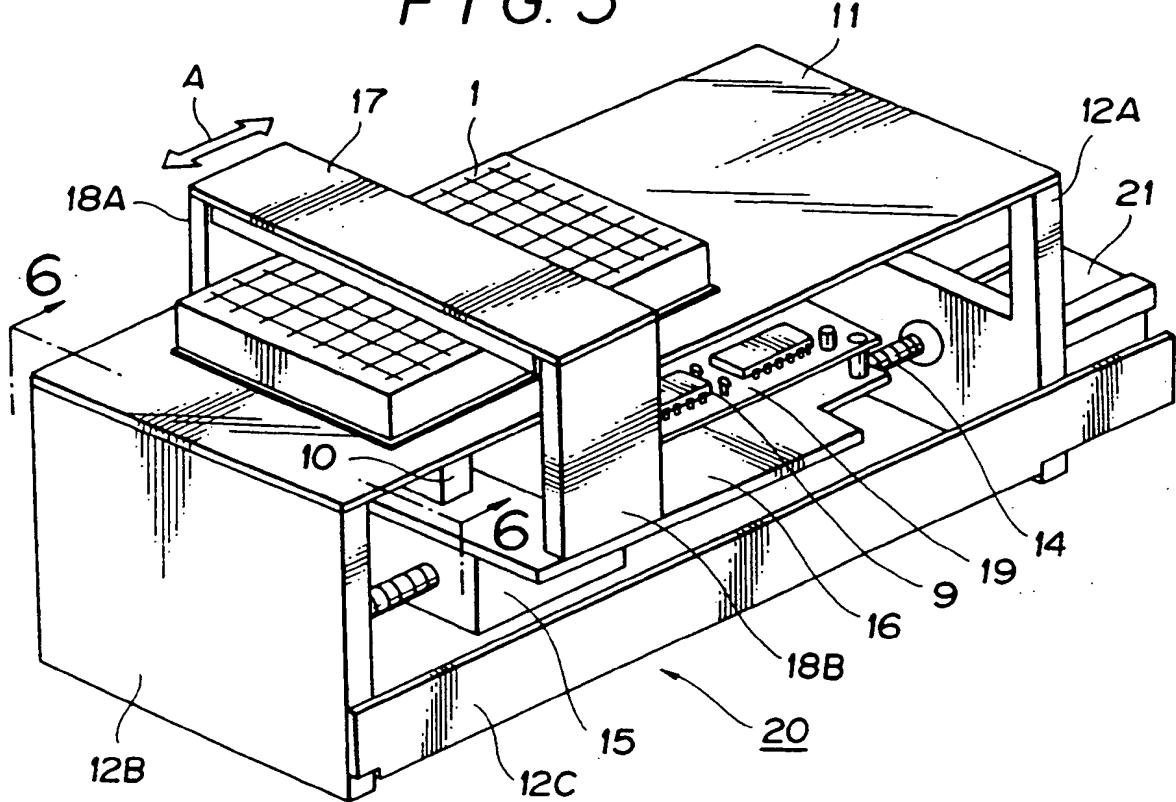
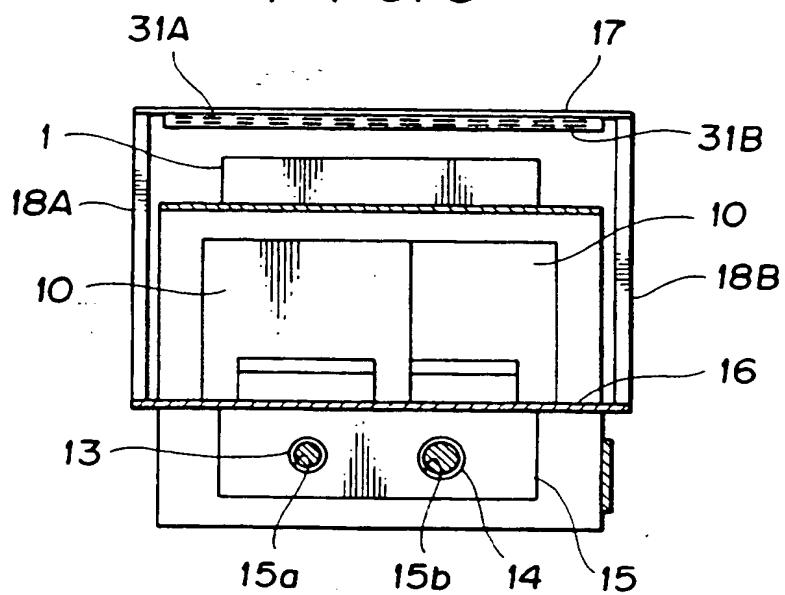


FIG. 6



ZEICHNUNGEN SEITE 5

Nummer:
Int. Cl. 5:
Offenlegungstag:

DE 40 13 588 A1
G 01 N 33/53
14. November 1991

FIG. 7

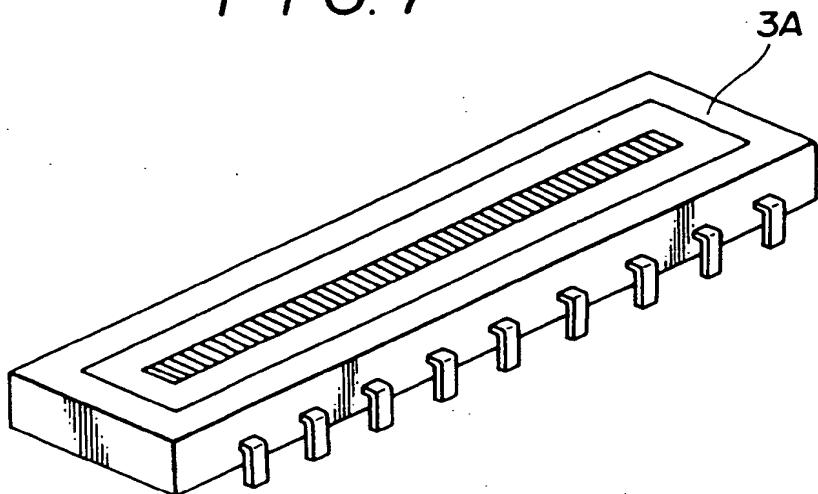
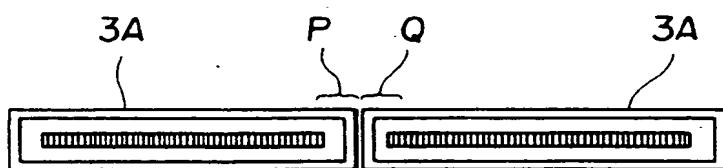


FIG. 8



F I G. 9

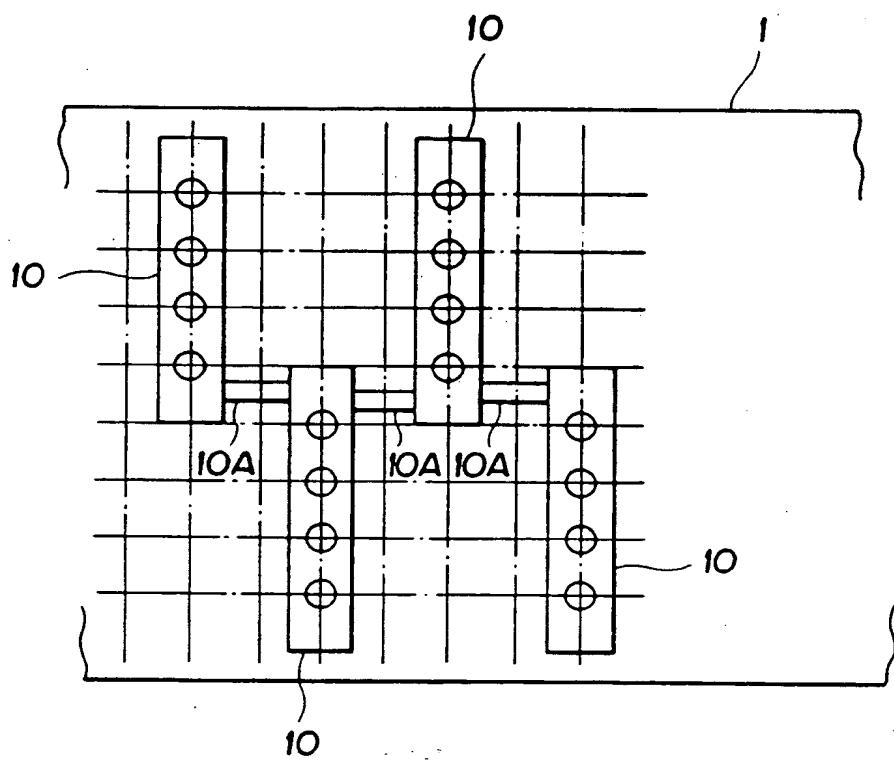


FIG. 10

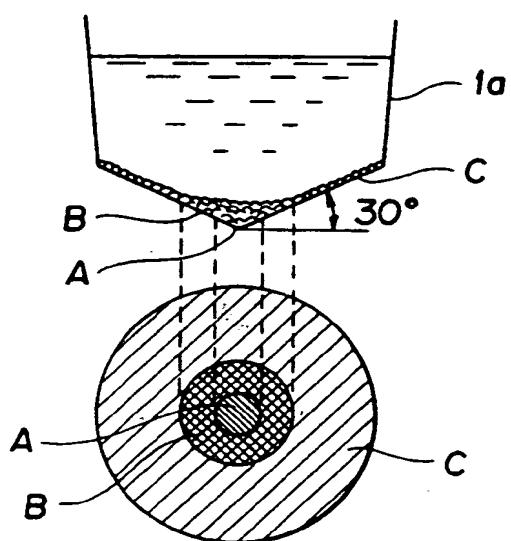


FIG. 11

STAND DER TECHNIK

